植 物 分 类 与 资 源 学 报 2013，**35**（5）：563～568
Plant Diversity and Resources DOI：10.7677/ynzwyj201312150

雪里蕻非特异脂质转运蛋白基因的克隆与分析*

田爱梅
（西安文理学院生物技术学院，陕西 西安 710065）

摘要：非特异脂质转运蛋白是植物生命活动中一类重要的活性蛋白，这类蛋白在植物的抗性和防御中行使着重要的功能。近年来研究发现这类蛋白还与植物的有性生殖密切相关。通过已得到的普通白菜的脂质转运蛋白基因 *BcMF15* 的核苷酸序列，在其基因全长两侧设计引物，从雪里蕻中克隆得到该类活性蛋白基因，命名为 *BjLTP*（登陆号：EU082009）。该基因全长 650 bp，不含内含子。不同组织的表达特征分析发现，*BjLTP* 在雪里蕻的花蕾、开放的花中特异表达，推测 *BjLTP* 可能与花粉的发育有关。蛋白质特征预测及蛋白序列结构分析发现 BjLTP 是一个跨膜蛋白，具有显著的疏水区。序列同源比对表明该基因与白花芥蓝、拟南芥等的脂质转运蛋白基因有很高的相似性，证明 BjLTP 是 LTP 家族的成员之一。

关键词：雪里蕻；脂质转运蛋白；基因
中图分类号：Q 943.2 **文献标识码**：A **文章编号**：2095-0845(2013)05-563-06

Isolation and Molecular Characterization of nsLTP-Like Gene from *Brassica juncea* var. *multiceps*（Cruciferae）

TIAN Ai-Mei
（*College of Biological Technology*，*Xi'an University of Arts and Science*，Xi'an 710065，China）

Abstract：Non-specific Lipid transfer proteins（nsLTPs）were a group of important active proteins in in higher plants. Their function has been suggested to have a role in plant resistance and defense response. According to recent studies，LTPs play an important role in plant reproduction and development. In this study，*BjLTP* was cloned from *Brassica juncea* var. *multiceps* based on *BcMF15* from *Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *communis BjLTP* was 650 bp（EU082009）in length with no intron. RT-PCR analysis showed that *BjLTP* was expressed in flower buds and open flower but not other tissues. The gene may act as nsLTPs involving in pollen development. Protein characteristics and sequence structure were predicted，that it was a transmembrane protein with obvious hydrophobic region. *BjLTP* was identified as a Lipid transfer protein gene according to its high identity with *Brassica oleracea*（MF15bh）and *Arabidopsis thaliana* LTP.

Key words：*Brassica juncea* var. *multiceps*；Lipid transfer proteins；Gene

脂质转运蛋白（lipid transfer proteins，LTPs）是植物生命活动中一类重要的活性蛋白，这类蛋白在植物的抗性和防御中行使着重要的功能。在体外能够可逆地结合和转运多种脂质分子，大多数 LTPs 结合脂质是非特异的，因而又称为非特异脂质转运蛋白（ns LTPs）。其显著的结构特征是分子内有一个疏水穴，在 N 端具有典型的信号肽结构。近年来研究发现，这类蛋白不仅在植物的抗性和防御中行使重要功能，而且参与植物的授粉、受精及生殖发育过程（刘群等，2009；刘梅等，2011）。花粉发育在植物生殖发育过程中是一个研究热点，许多与花粉发育相关基因的

* 基金项目：国家自然科学基金（31372083）
收稿日期：2012-11-13，2013-02-04 接受发表
作者简介：田爱梅（1972-）女，博士，副教授，主要从事植物生物技术方面的研究。E-mail：tianaimei@126.com

功能也相继被报道（刘志勇等，2011）。Crossley等（1995）对百合绒毡层特异的cDNA文库进行差异筛选，分离出16个花药发育特异的cDNA片段，分析发现在这些绒毡层特异表达蛋白中存在有非特异性LTP。在油菜中绒毡层和小孢子特异表达的*LTPs*可能参与了雄性生殖器官中沉积花粉壁发育所需物质的功能。Ariizumi等（2002）发现拟南芥*LTP12*表达在花粉发育的单核和二核花粉阶段，并进一步定位在绒毡层，它的功能被认为在花粉发育过程中从绒毡层到花粉外壁传递脂质（Park等，2000；田爱梅和曹家树，2008；Chae等，2009）。

本实验室在对矮脚黄普通白菜（*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* Markino var. *communis* Tsen et Lee）小孢子发育的研究中，发现一个脂质转运蛋白基因*BcMF15*（GenBank accession：EF600901），并证实它在白菜两用系的可育株系中特异表达，而在不育系的相应部位不表达。功能验证研究发现*BcMF15*与白菜花粉发育密切相关（Tian等，2009）。

雪里蕻（*Brassica juncea* Coss. var. *multiceps* Tsen et Lee）属于十字花科芸苔属芥菜种，是分蘖芥的一个变种，具有多种功效，可以开胃消食、解毒消肿，并且还有着抗癌的功效，同时它还是一种生命力强、生长周期短的芸薹属植物（虞慧芳等，2007；高乃波等，2009），适宜作为转基因的材料。本实验室已经建立了成熟的菜心遗传转化体系，并成功用于多种基因的转基因实验。为探讨脂质转运蛋白基因参与调控植物的花粉发育的机理，本研究从芥菜属的雪里蕻中首次克隆出该类蛋白的*LTP*基因，并对其序列特征、时空表达和系统进化进行了初步分析，为下一步在雪里蕻中进行*BjLTP*转基因研究提供支持。

1 材料与方法

1.1 材料

以浙江大学蔬菜研究所细胞及分子生物学实验室保留的雪里蕻种子为材料，播于蔬菜研究所试验田，按常规进行田间管理。在苗龄40 d时，随机选单株，每株取2~3片鲜嫩叶片，并用75%的酒精棉擦洗干净、做好标记、用纱布包好，立即投入液氮中，−75 ℃保存备用。

1.2 主要试剂

Trizol^{R}购自Life Technologies公司。Taq DNA聚合酶和DNA Ladder购自北京鼎国生物技术有限公司生产。cDNA合成试剂盒SMART^{TM} PCR cDNA Synthesis Kit购自美国Clontech公司。*Eco*RⅠ、DEPC、IPTG、X-gal等购自上海生工生物程技术有限公司。T4 DNA连接酶、pGEM-T-easy-vector购自美国Promega公司。大肠杆菌（*Escherichia coli*）*DH5α*菌株为本实验室保存。

1.3 DNA提取、RNA分离及cDNA的合成

DNA提取参照CTAB法进行。RNA分离参照Life Technologies公司Trizol^{R}的说明书进行。RNA沉淀用DEPC水溶解，−75 ℃保存备用。用分光光度计测定OD260和OD280。根据OD260值计算RNA的产量；根据OD260/OD280值判断RNA的质量。RNA甲醛变性凝胶电泳检测RNA的质量参照《分子克隆》中的方法进行。cDNA第1链和第2链的合成参照SMART^{TM} PCR cDNA Synthesis Kit User Manual进行。

1.4 引物合成

根据BcMF15的DNA序列设计上下游引物P1，P2扩增目的基因的DNA和cDNA全长序列。引物序列为：

P1：5′-CGAAGCTAATTATCACGAGAACTAC-3′

P2：5′-CACCAACTTTATGCGTAATAAGCATG-3′，

引物序列委托上海生物工程技术有限公司合成。

1.5 目的基因的PCR扩增、克隆和测序

以雪里蕻总DNA以及双链cDNA为模板，扩增基因全长和cDNA全长。

PCR反应总体积25 μL，包括DNA模板（20 ng μL^{-1}）1 μL，10* PCR反应缓冲液2.5 μL，dNTP（10 μM）0.5 μL，上下游引物（10 μM）各0.5 μL，Taq酶（5 U·μL^{-1}）0.5 μL，反应条件为94 ℃预变性3 min；94 ℃变性30 s，56 ℃退火45 s，72 ℃延伸1 min，30个循环；72 ℃延伸8 min。扩增产物用1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测其大小、纯度。扩增结果用INVITROGEN公司的DNA凝胶回收试剂盒回收，T4连接酶4 ℃连接过夜，转入*DH5α*大肠杆菌中。在含有IPTG和X-gal的氨苄青霉素LB培养基上挑选白色重组克隆。挑取单个白色菌落，以碱裂解法抽提质粒，用*Eco*R I进行单酶切鉴定和PCR鉴定后，送上海生物工程有限公司测序。

1.6 *BjLTP*基因的时空表达分析

分别用雪里蕻不同大小的花蕾、开放花、嫩角果、茎和叶片进行取材，液氮速冻，−75 ℃保存备用。总RNA提取与cDNA第1链合成同1.3，采用*β-actin*（GenBank accession number：EU012495）作为参照，P1：5′-TCTCTATGCCAGTGGTCGTA-3′；P2：5′-CCTCAGGACAACGGAATC-3′。反应体系如下：cDNA模板0.3 μL，10* PCR缓冲溶液2 μL，25 mmol·L^{-1}的Mg^{2+} 1.6 μL，1引物

P1（20 μM）0.5 μL、引物 P2（20 μM）0.5 μL、10 mmol·L^{-1} dNTPs 0.4 μL、Taq 酶（5 U·$μL^{-1}$）0.2 μL，加水到总体积 20 μL。PCR 程序：94 ℃预变性 3 min；94 ℃变性 30 s，53 ℃退火 45 s，72 ℃延伸 1 min，25 个循环；72 ℃延伸 7 min，4 ℃保存。RT-PCR 产物经测序进行验证。

1.7　核酸序列及编码蛋白的特征分析

利用 DNAStar 软件对从雪里蕻中得到的 BjLTP 核苷酸序列进行分析，包括序列的开放阅读框的查找、氨基酸序列的翻译。预测蛋白质特征及蛋白序列结构分析通过蛋白质专家分析系统（http://ca.expasy.org）进行。

1.8　同源比对和系统树构建

根据已经分离的 BjLTP 氨基酸序列及 LTP 家族的部分成员，参考王玲平等（2005）和陈玲（2012）的分析方法，利用 Clastal X 1.83 软件进行多序列对齐和排序，其结果用 MEGA 3.1 软件用 NJ 法（Neighbor Joining Method）构建进化树。

2　结果与分析

2.1　*BjLTP* 基因 DNA 全长和 cDNA 全长的获得

分别以以雪里蕻 DNA 及 cDNA 为模板，以 P1、P2 为引物扩增获得 *BjLTP* 全长和 cDNA 全长。PCR 扩增结果表明（图 1），*BjLTP* 的 DNA 全长及 cDNA 全长均在约 650 bp 左右，表明 *BjLTP* 的 DNA 序列中不含有内含子。对所获 cDNA 和 DNA 扩增序列进行回收、连接、转化以及测序。测序结果表明：*BjLTP* 基因 DNA 及 cDNA 全长均为 650 bp，将该序列递交 NCBI 数据库（GenBank accession：EU082009）。

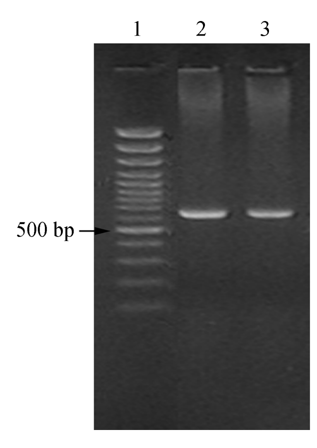


图 1　BjLTP 基因 PCR 扩增结果

泳道 1．3 kb 核酸分子量标记；泳道 2．以雪里蕻 DNA 为模板扩增结果；泳道 3．以雪里蕻 cDNA 为模板扩增结果

Fig. 1　Amplication results of BjLTP

Lane 1, 3 kb DNA marker; Lane 2, amplified product with *Brassica juncea* Coss. var. *multiceps* DNA as template. Lane 3, amplified product with *Brassica juncea* Coss. var. *multiceps* cDNA as template

2.2　*BjLTP* 序列特征分析

利用 DNAStar 软件分析 *BjLTP* 基因最大开放阅读框为 312 bp，编码 103 个氨基酸（图 2），对 *BjLTP* 编码蛋白质的特征分析表明，该基因编码的氨基酸序列的分子量为 11.36 kDa，等电点为 8.577，pH = 7 时的电荷为 5.970。

含有碱性氨基酸（K、R）12 个，酸性氨基酸（D、E）6 个，疏水氨基酸（A、I、L、F、W、V）41 个，极性氨基酸（N、C、Q、S、T、Y）27 个。通过 Prosite 数据库分析，发现 *BjLTP* 编码的蛋白包含有多个生物活性位点（图 2），如信号肽（1 ~ 22）、酰胺化位点（43 ~ 46）、酪蛋白激酶 II 磷酸化位点（99 ~ 102）等。通过蛋白质专家分析系统 http://ca.expasy.org）分析结果表明 *BjLTP* 编码了一个跨膜蛋白，具有显著的疏水区（图 3）。

2.3　*BjLTP* 基因的时空表达分析

分别用雪里蕻不同发育阶段的花蕾、开放花、嫩角果、茎和叶片的 cDNA 为模板，用 *BjLTP* 的全长引物 P1、P2 进行 RT-PCR 分析（图 4）表明，*BjLTP* 在小、中、大花蕾和开放的花中持续表达，而在嫩角果、花茎、叶片中都没有表达。因此推测该基因可能与花粉的发育有关。

2.4　*BjLTP* 同源比对和系统树构建

把 *BjLTP* 的 cDNA 在 GenBank 数据库用 blast 软件进行同源性搜索，结果发现 *BjLTP* 与白花芥蓝 *MF15bh*（GenBank accession：EU082008）有 92% 的相似性，与拟南芥的脂质转运相似蛋白（lipid transfer protein，LTP）（GenBank accession：EF182851）有 88% 的相似性。说明该基因是 LTP 家族的成员之一。

用 MEGA3.1 软件对蛋白序列构建进化树，建树的蛋白序列来自玉米（GenBank accession：CAB65538，ACG24419，ACG33643）、拟南芥（GenBank accession：AEE84633，AEE74544，EF182851，AEE78898，BAD43566）、筷子芥（GenBank accession：EFH47517）、蒺藜苜蓿（GenBank accession：AES79384）、大麦（GenBank accession：AAB47967）、芥蓝（GenBank accession：EU082008）及雪里蕻（GenBank accession：EU082009）。

```
GCCATGGCGGCCGCGGGAATTCGATTCGAAGCTAATTATCACGAGAACTACAAATTAATT
CCAAAAATGAAGTTAATTTCATTGATGTGCATCGCCTTTGTCATACTCTTGACATCATTC
         M  K  L  I  S  L  M  C  I  A  F  V  I  L  L  T  S  F
CCGGCTACGGCTATTACGTTCAACCCTGCTTGCATTAAAAATCATGATACCTGCGGCCCC
 P  A  T  A  I  T  F  N  P  A  C  I  K  N  H  D  T  C  G  P
CTAGTTGCTGTAAAGGGCCGGCGGTGGAGACCCGAATGTTGTAAAATTTGGAGCGGGAAT
 L  V  A  V  K  G  R  R  W  R  P  E  C  C  K  I  W  S  G  N
GTACTTCCAGAAACAAGACAATGTGCATGTTATGTACTGAAACATTCTTTATTTGGCAAT
 V  L  P  E  T  R  Q  C  A  C  Y  V  L  K  H  S  L  F  G  N
GGTGTTCTTCCCCTTATTTTAGCTAAGTGTAAATTAGGTGGTATCGAACAATTCAAATGT
 G  V  L  P  L  I  L  A  K  C  K  L  G  G  I  E  Q  F  K  C
TCGGAGGTGGAAACATAAAATAGTTAACTAACCAGAATCGTGAAAACCAAACTGGAGATA
 S  E  V  E  T  *
ATAAGATAAAGTAATCAATTGGGTATTTCTTTATTTCTTTCTAATCATTTTAATAATGTTACT
GTTCAATAAGGAGAGAGAAATGGTTTGTTTTTGTTCATGCTCGTGTGAATTACGATTCCA
TGTTTTTTTGTTTCCATGTATTTTCTTATATATTTAGTAAAAAAATGAAAAGGTATAATCTAG
TCTGGATTAAGTACCATAAATAAATATTTGTTCTTAATCTTAGTGCTTTGGACTTGTAACCAC
CAACTTTATGCGTAATAAGCATGAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCCTGCAGGTCGAC
CATATGGGAGAGCTCCCAA
```

图2　BjLTP的序列分析结果。单下划线部分表示扩增时的引物序列；起始密码子和终止密码子加框表示；阴影区是该基因的ORF；双下划线部分表示酰胺化位点；点划线表示磷酸化位点；波浪线表示跨膜区

Fig. 2　The structure analysis of BjLTP. Single underline is sequences of primers; Initiation and stop code are shown in framing. Shadow is open reading frame of BjLTP. Double Underlined is amidation site. Dot dash line is Casein kinase II phosphorylation site. Wave line is transmembrane domain

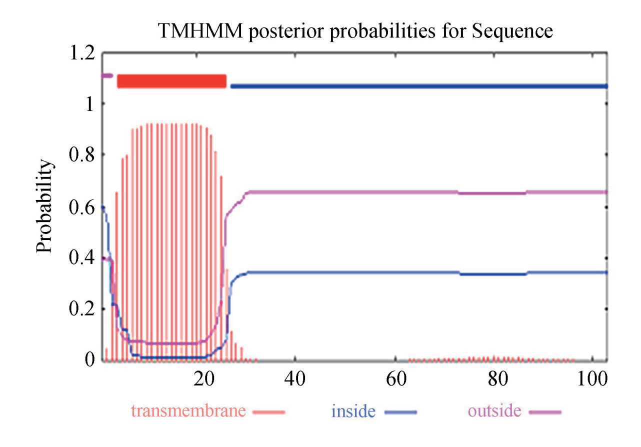


图3　*BjLTP*序列跨膜区的预测

Fig. 3　Prediction of transmembrane region with ProtParam tool software

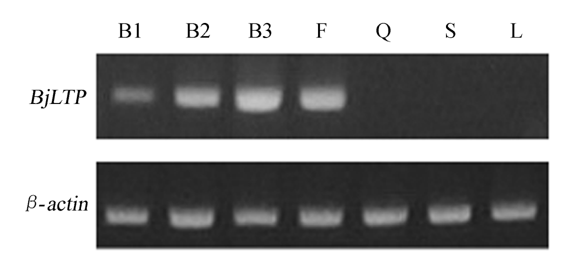


图4　*BjLTP*在雪里蕻中的表达。B1代表小花蕾（直径小于2.2 mm；B2代表中花蕾（直径在2.2 mm～3.4 mm之间；B3代表大花蕾（直径大于3.4 mm）；F代表开放的花；Q代表嫩角果；S代表花茎；L代表叶片。β-actin作为内参对照

Fig. 4　RT-PCR analysis of the spatial and temporal expression pattern of the *BjLTP* in different tissues of *Brassica juncea* Coss. var. *multiceps*. B1–B3, indicate small flower buds (with bud diameters less than 2.2 mm), middle flower buds (with buds diameters approximately at 2.2 mm–3.4 mm) and big flower bud (with diameters greater than 3.4 mm), respectively. F, indicate open flowers. Q, indicate germinal siliques. S, indicate scapes. L, indicate leaves of seedling. Transcripts for the ubiquitously expressed β-actin were used as controls in RT-PCR

从进化树上（图5）可以看出BjLTP与白花芥蓝（*Brassica oleracea*）（MF15bh）亲缘关系较近，其次为拟南芥（EF182851）和苜蓿（AES79384），而与大麦（AAB47967）和玉米（CAB65538，ACG24419，ACG33643）的亲缘关系较远。LTP蛋白属于一个大的蛋白家族，在不断地进化过程中，逐渐形成不同的类别，反映了这些物种进化的规律，其主要的三个分支和传统分类学吻合。

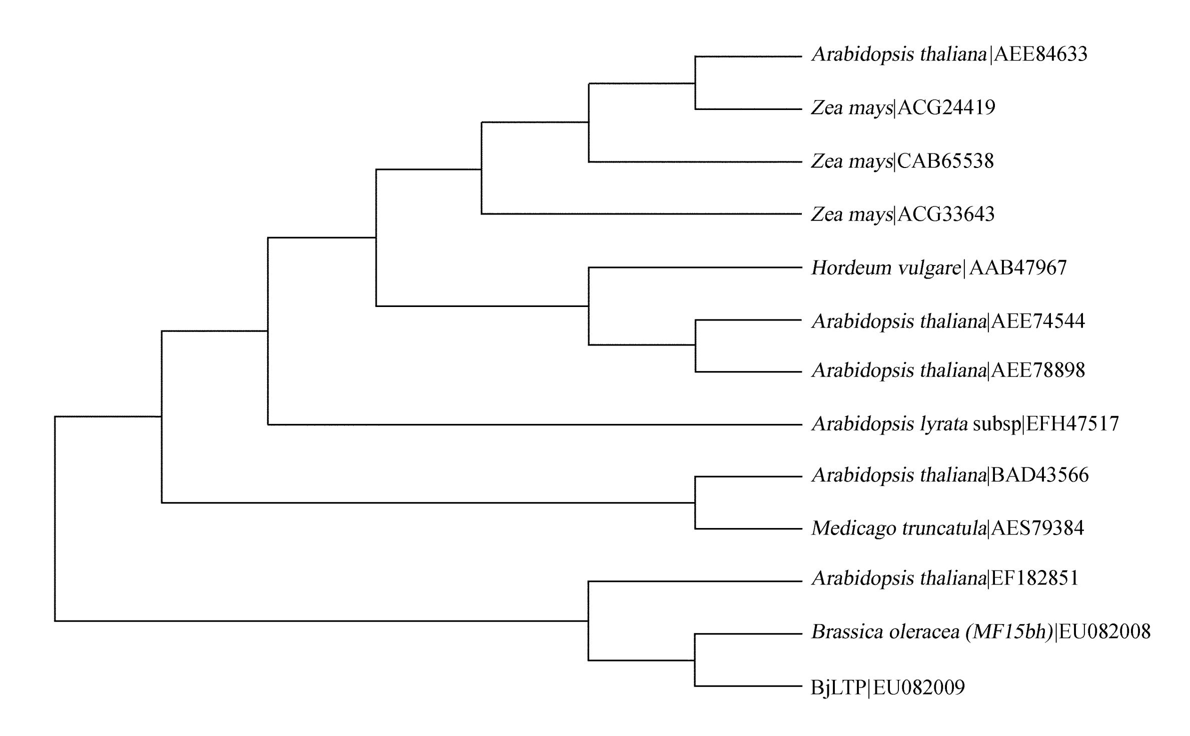


图 5　基于推测的 BjLTP 编码蛋白的氨基酸序列构建的 NJ 系统进化树

Fig. 5　Phyiogenetic tree based on putative BjLTP protein and other LTP Proteins using NJ method

3　讨论

LTPs 基因属于一个多基因家族，不同的 *LTPs* 基因编码相似的蛋白质，同一家族不同的成员具有不同的表达模式，同时每个基因的表达模式受植物的生长发育阶段、解剖结构、生物或非生物胁迫的影响（Ei-Shesawi 等，2011）。植物 LTPs 一级结构在不同物种间的同源性相差较大，氨基酸序列同源性在 30% ~70% 之间，如水稻 LTPs 与其他单子叶作物的 LIPs 相比较，同源性高的可达 71%（玉米），低的仅 43%（大麦）。在本研究中我们也发现 *BjLTP* 与拟南芥 *LTP* 家族不同成员间的亲缘关系存在较大的差异，如 *BjLTP* 与拟南芥（GenBank accession：EF182851）同源性相差较小，而与拟南芥（GenBank accession：AEE84633）却表现出较低的同源性。尽管在 *LTPs* 家族中存在这种多态性，但它们都具有 *LTPs* 的结构特点和特性（郜刚等，2008；蒋倩等，2012）。*BjLTP* 与白菜的 *BcMF15* 基因的相似性极高（编码框内仅有 1 个核苷酸的差异），都属于脂质转运蛋白基因。RT-PCR 分析结果证明了 *BjLTP* 在花粉发育过程中持续表达，可能与花粉的育性和花粉管的伸长有密切的关系。我们已对 *BcMF15* 的功能进行了分析发现：*BcMF15* 与小孢子发育密切相关。近年来，相继有了关于 *LTPs* 参与小孢子及花粉发育的研究报道（Hang 等，2009；Kato 等，2010；Zhang 等，2010），因此推测雪里蕻中的 *BjLTP* 在花粉发育中必定起到关键作用，本课题组已在雪里蕻中进行转基因试验，深入探讨该基因的功能，为进一步阐释 LTPs 在植物生殖发育方面的作用提供线索。

〔参　考　文　献〕

Ariizumi T, Amagai M, Shibata D *et al.*, 2002. Comparative study of promoter activity of three anther-specific genes encoding lipid transfer protein, xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase and polygalacturonase in transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Reports*, **21**: 90—96

Chae K, Kiehlich CA, Morikis DA *et al.*, 2009. Gain-of-function mutation of Arabidopsis lipid transfer protein 5 disturbs pollen tube tip growth and fertilization [J]. *The Plant Cell*, **21**: 3902—3914

Chen L (陈玲), Zhang H (张颢), Qiu XQ (邱显钦) *et al.*, 2012. Cloning and analysis of NBS-LRR type disease resistance gene analogs from *Rosa rubusin* in Yunnan [J]. *Plant Diversity and Resources* (植物分类与资源学报), **34** (1): 56—62

Crossley SJ, Greenland AJ, Dickinson HG, 1995. The characteriza-

tion of tapetum-specific cDNAs isolated from a *Lilium henryi* L. meiocyte subtractive cDNA library [J]. *Planta*, **196**: 523—529

Ei-Shesawi AM, Elseehy MM, Hedgcoth C, 2011. Isolation and sequence analysis of wheat tissue-specific cDNAs by differential display [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, **29** (1): 135—148

Gao G (郜刚), Ren CH (任彩虹), Jin LP (金黎平) *et al.*, 2008. Cloning, expression and characterization of a non-specific lipid transfer protein gene from potato [J]. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), **34** (9): 1510—1517

Gao NB (高乃波), Liu XG (刘晓光), Shi ML (施曼玲), 2009. Establishment of efficient regeneration system of *Brassica juncea* var. *multiceps* [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis* (浙江农业学报), **21** (2): 149—153

Hang MD, Wei FJ, Wu CC *et al.*, 2009. Analyses of advanced rice anther transcriptomes reveal global tapetum secretory functions and potential proteins for lipid exine formation [J]. *Plant Physiology*, **149**: 694—707

Jiang Q (蒋倩), Wang F (王枫), Hou XL (侯喜林) *et al.*, 2012. Cloning and expression pattern analysis of *nsLTP* gene in Celery [J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), **39** (7): 1293—1302

Kato H, Xie G, Sato Y *et al.*, 2010. Isolation of anther-specific gene promoters suitable for transgene expression in rice [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, **28**: 381—387

Liu M (刘梅), Sheng H (生华), Hua WP (化文平) *et al.*, 2011. Cloning and expression analysis of a non-specific lipid transfer protein gene (*SmLTP1*) from *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Plant Physiology Journal* (植物生理学报), **47** (1): 63—68

Liu Q (刘群), Ma J (马婧), Zhu QL (祝钦泷) *et al.*, 2009. Expression analysis of three non-specific lipid transfer protein (nsLTP) genes in response to abiotic stresses in *Chimonanthus praecox* [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology* (农业生物技术学报), **17** (6): 1027—1034

Liu ZY (刘志勇), Ye XL (叶雪凌), Li CY (李承彧) *et al.*, 2011. Cloning and characterization of a genic male sterility-related gene *BrLTP1* in Chinese Cabbage [J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), **38** (2): 343—352

Park SY, Jauh GY, Mollrt JC *et al.*, 2000. A lipid transfer-like protein is necessary for lily pollen tube adhesion to an *in vitro* stylar matrix [J]. *The Plant Cell*, **12**: 51—163

Tian AM (田爱梅), Cao JS (曹家树), 2008. Lipid transfer proteins in plants [J]. *Chinese Journal of Cell Biology* (细胞生物学杂志), **30**: 483—488

Tian AM, Cao JS, Huang L *et al.*, 2009. Characterization of a male sterile related gene *BcMF15* from *Brassica campestris* ssp. *Chinensis* [J]. *Molecular Biology Reports*, **36**: 307—314

Wang LP (王玲平), Cao JS (曹家树), Ye WZ (叶纨芝) *et al.*, 2005. Cloning and evolutionary analysis of homologous sequences of *CYP86MF* gene in Cruciferae [J]. *Hereditas* (遗传), **27** (3): 395—402

Yu HF (虞慧芳), Zhong XM (钟新民), Gu HH (顾宏辉) *et al.*, 2007. Obtaining microspore-cultured plants in potherb mustard, *Brassica juncea* var. *multiceps*, by space-breeding satellite [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis* (浙江农业学报), **19** (5): 356—359

Zhang DS, Liang WQ, Yin CS *et al.*, 2010. OsC6, encoding a lipid transfer protein, is required for postmeiotic anther development in rice [J]. *Plant Physiology*, **154**: 149—162